

Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio

Enzymatic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, clinical and laboratory aspects

Diana Isabel Espinoza Pesantez¹ y German Francisco Esparza Sanchez²

¹Universidad de Cuenca, Ecuador.

²Programa de aseguramiento de la calidad en el laboratorio clínico PROASECAL, Colombia.

Declaración de conflictos de interés: Ninguno

Financiamiento: Ninguno

Recibido: 4 de enero de 2020 (segunda versión: 2-de octubre de 2020) / Aceptado: 9 de diciembre de 2020

Resumen

Pseudomonas aeruginosa es uno de los principales patógenos que causa infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS). Su capacidad de adaptación, diseminación, resistencia intrínseca a los antimicrobianos y de adquirir nuevos mecanismos a través de elementos genéticos móviles, hacen que el tratamiento de las infecciones por este microorganismo sea un desafío para el médico clínico. Intrínsecamente, *P. aeruginosa*, presenta una reducida permeabilidad en la membrana externa, debido a la expresión de bombas de expulsión, y una cefalosporinasa tipo AmpC inducible. Además, *P. aeruginosa* es capaz de adquirir nuevos determinantes de resistencia por transferencia horizontal en forma de casetes situados en integrones, y a su vez, localizados en transposones o plásmidos. Dentro de la resistencia enzimática que presenta *P. aeruginosa* destacan las β -lactamasas, incluyendo aquellas de espectro extendido (BLEE) y las carbapenemasas. Pero también enzimas modificadoras de los aminoglucósidos, haciendo que este microorganismo pueda presentar fenotipos de multi-resistencia (MDR), resistencia extrema (XDR) y panresistencia (PDR) a los antimicrobianos denominados antipseudomonas, incluyendo a las nuevas cefalosporinas con inhibidores de β -lactamasas.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*; resistencia antimicrobiana, resistencia enzimática; nuevos antimicrobianos; β -lactámicos; aminoglucósidos; inhibidores de β -lactamasas.

Abstract

Pseudomonas aeruginosa is one of the major pathogens causing healthcare-associated infections (HAI). Its capacity of adaptation, dissemination, intrinsic resistance to antimicrobials and of acquiring new mechanisms through mobile genetic elements, make the treatment of infections by this microorganism a challenge for the clinician. Intrinsically, *P. aeruginosa*, presents a reduced permeability in the external membrane, due to the expression of efflux pumps, and an inducible AmpC-type cephalosporinase. In addition, *P. aeruginosa* is able to acquire new resistance determinants by horizontal transfer in the form of cassettes located in integrons, and in turn located in transposons or plasmids. Within the enzymatic resistance that *P. aeruginosa* presents, betalactamases, including extended spectrum (ESBL) and carbapenemases. But also aminoglycoside modifying enzymes, stand out, causing this microorganism to present multi-resistance phenotypes (MDR), extreme resistance (XDR) and pan-resistance (PDR) to the called antipseudomonal antibiotics, including the new cephalosporins with betalactamase inhibitors.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; antibiotic resistance; enzymatic resistance; new antimicrobials; betalactams; aminoglycosides; betalactamase inhibitors.

Correspondencia a:

Diana Isabel Espinoza Pesantez
diespinoza@javeriana.edu.co

Introducción

Pseudomonas aeruginosa, es un bacilo gramnegativo, no fermentador de glucosa y lactosa, no forma parte de la microbiota normal del ser humano, pero puede encontrarse como colonizante de las zonas corporales húmedas (axilas, conducto auditivo, región perianal y mucosas)¹. Es uno de los principales patógenos que causan infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), afectando particularmente a pacientes inmunocomprometidos (pacientes con dispositivos invasivos, post-quirúrgicos, hemato-oncológicos, neutropénicos, con quemaduras graves, etc.)^{2,3}.

La creciente prevalencia de IAAS por cepas de *P. aeruginosa* multi-resistente (MDR), debido a su resistencia intrínseca y la capacidad de adquirir mecanismos adicionales de resistencia a una gran variedad de antimicrobianos inclusive durante la terapia, limita las opciones terapéuticas disponibles, lo que se asocia a una elevada morbi-mortalidad, en especial en pacientes que reciben una terapia empírica inadecuada (30,7%), comparativamente con aquellos que reciben un manejo apropiado (17,8%)^{2,4}. Así mismo, la elevada prevalencia de *P. aeruginosa* con resistencia a carbapenémicos, fluoroquinolonas y aminoglucósidos presenta desafíos significativos para los profesionales de salud. La ototoxicidad y la toxicidad renal, además de la creciente tasa de resistencia de *P. aeruginosa* a aminoglucósidos, limita el potencial terapéutico de las combinaciones con β-lactámicos para infecciones por *P. aeruginosa* MDR^{2,5}.

Patogenia

La patogénesis de la infección causada por *P. aeruginosa* ocurre en tres etapas: La primera es la adhesión bacteriana y colonización, la segunda etapa es invasión local, y por

último la diseminación e infección sistémica. Tras el establecimiento de la infección, *P. aeruginosa* secreta exotoxinas del tipo A y S conjuntamente con enzimas hidrolíticas, compuestos que al entrar en contacto con los tejidos degradan las membranas celulares y las destruyen progresivamente con el objetivo de facilitar su diseminación, la invasión tisular y la necrosis^{6,7}.

La gravedad de las infecciones causadas por *P. aeruginosa* se debe a los factores de virulencia que presenta, principalmente exotoxinas, proteasas y exo-enzimas, que causan daño extenso del tejido del hospedero al alterar la estructura normal del cito-esqueleto, ocasionando una despolimerización de los filamentos de actina y la escisión de las inmunoglobulinas G y A^{8,9}.

Resistencia a antimicrobianos en *P. aeruginosa*

Mecanismos de resistencia intrínseca

La resistencia intrínseca es definida como la resistencia antimicrobiana innata o natural que se observa en la mayoría de aislados de una especie. *Pseudomonas aeruginosa* expresa un alto nivel de resistencia intrínseca a la mayoría de los antimicrobianos, debido principalmente, a una membrana externa poco permeable, expresión de bombas de expulsión, mutaciones que modifican el sitio de acción de algunos antimicrobianos y a la inactivación enzimática a través de una cefalosporinasa cromosomal tipo AmpC inducible^{1,3}.

De acuerdo con la guía CLSI M100 edición 30th, la resistencia natural a los antimicrobianos en este microorganismo se describe en la Tabla 1¹⁰.

Mecanismos de resistencia adquirida

Pseudomonas aeruginosa puede desarrollar resistencia a los antimicrobianos a través de mutaciones en los genes

Tabla 1. Resistencia antimicrobiana intrínseca en *P. aeruginosa*

β-lactámicos	Penicilinas y combinaciones de β-lactámicos	Ampicilina, amoxicilina, ampicilina/sulbactam, amoxicilina/ácido clavulánico		
	Cefalosporinas de 1º generación	Cefazolina, cefalotina, cefradina, cefadroxilo, cefalexina		
	Cefalosporinas de 2º generación y cefamicinas	Cefuroxima, cefoxitina, cefotetan		
	Cefalosporinas de 3º generación	Ceftriaxona, cefotaxima		
	Carbapenémicos	Ertapenem		
Tetraciclinas y glicilclinas	Quinolonas	Anfenicoles	Nitrofuranos	Sulfonamidas asociadas a trimetoprima
Tetraciclina, doxiciclina, minociclina, tigeciclina	Ácido nalidíxico, ácido pipemídico	Cloranfenicol	Nitrofurantóina	Trimetoprima/sulfametoxazol (cotrimoxazol)

Fuente: guía CLSI M100 30º edición Apéndice B -Tabla B-2¹⁰.

propios o de adquisición horizontal por elementos genéticos móviles que transportan enzimas como β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), carbapenemasas de clase A y D de Ambler y metalo- β -lactamasas (MBL) de clase B de Ambler⁶. Adicional a estos mecanismos, *P. aeruginosa* puede adquirir genes que codifican enzimas modificadoras de los aminoglucósidos (EMA); todo esto sumado a mecanismos intrínsecos de resistencia, como bombas de expulsión e impermeabilidad de membrana, potencia la resistencia antimicrobiana reduciendo las alternativas terapéuticas⁹.

Resistencia enzimática a los antimicrobianos β -lactámicos

β -lactamasas de *P. aeruginosa*

Los análisis moleculares y genéticos de aislados clínicos han demostrado que *P. aeruginosa* puede producir una diversidad de β -lactamasas, algunas de las cuales están codificadas por genes cromosómicos y otras son

transportadas por elementos genéticos móviles (como plásmidos y transposones). La resistencia asociada a β -lactamasas en *P. aeruginosa* depende también de la eficacia de penetración del fármaco, la capacidad de este patógeno para minimizar la acumulación del fármaco en el espacio periplásmico (mediante bombas de expulsión) y los efectos cooperativos de diferentes β -lactamasas dentro de la misma célula¹¹.

A continuación, se resumen las diferentes familias de β -lactamasas según la clasificación actualizada de Bush y Jacoby (Tabla 2).

Grupo 1. Cefalosporinasa cromosomal AmpC

Es una β -lactamasa tipo serina de clase molecular C, se caracteriza por su hidrólisis eficaz de las cefalosporinas y su resistencia a la inactivación por clavulanato, sulbactam y tazobactam. La AmpC de *P. aeruginosa* es una enzima inducible. En ausencia de otros mecanismos de resistencia, las cepas salvajes de *P. aeruginosa* con producción basal de AmpC, pueden ser susceptibles a las penicilinas antipseudomonas, combinaciones de

Tabla 2. β -lactamasas de *P. aeruginosa*, según la clasificación actualizada de Bush y Jacoby

Grupo funcional Clase molecular	Espectro de hidrólisis	Enzimas representativas
Grupo 1 C	PEN, PEN+IBL, CEF, CFM, MNB	AmpC cromosomal
Grupo 1e C	PEN, PEN+IBL, CEF, CFM, MNB, CRB	AmpC de espectro extendido
Grupo 2b A	PEN, CF1.	TEM-1, TEM-2. SHV-1
Grupo 2be A	PEN, CF1, CFA, MNB	TEM-4, TEM-21, TEM-24, TEM-42, TEM-116, SHV-2, SHV-2a, SHV-5, SHV-12. CTX-M1 a CTX-M3, CTX-M14, CTX-M15, CTX-M-43, PER-1, PER-2, VEB-1 a VEB-3, GES-1, GES-2, GES-5, GES-8, GES-9, GES-13, BEL-1 a BEL-3, PME-1
Grupo 2c A	PEN, PEN + IBL	PSE-1 a PSE-5, CARB-3, CARB-4
Grupo 2d D	PEN, PEN + IBL	OXA-5, OXA-6, OXA-10, OXA-13, OXA-20, OXA-46, OXA-56, LCR-1
Grupo 2de D	PEN, PEN + IBL, CEF, MNB	OXA-11, OXA-14 a OXA-19, OXA-28, OXA-31, OXA-32, OXA-34 a OXA-36, OXA-45, OXA-74, OXA-141, OXA-142, OXA-145, OXA-147, OXA-183
Grupo 2df D	PEN, PEN + IBL, CFA, CRB	OXA-40, OXA-48, OXA-50, OXA-181, OXA-198
Grupo 2f A	PEN, PEN + IBL, CEF, CRB	KPC-2, KPC-5, GES-2, GES-5, GES-18.
Grupo 3 B	PEN, PEN + IBL, CEF, CFM, CRB	IMP-1, IMP-2, IMP-4 a IMP-7, IMP-9 a IMP-11, IMP-13 a IMP-16, IMP-19 a IMP-26, IMP-48, VIM-1 a VIM-11, VIM-13 a VIM-20, VIM-28 a VIM-38, NDM-1, SPM-1, GIM-1, FIM-1

Fuente: Wolter D, y cols. 2012¹¹. Potron A, y cols. 2015¹². Subedi D, y cols. 2018¹³. Shaikh S, y cols. 2015¹⁴. Bonnin R, y cols. 2018¹⁵. Abreviaciones: PEN: penicilinas, PEN+IBL: penicilinas+inhibidores de β -lactamasas, CEF: cefalosporinas, CFM: cefamicinas, MNB: monobactámicos, CRB: carbapenémicos CF1: cefalosporinas de primera generación, CEFEE: cefalosporinas de espectro expandido, CFA: cefalosporinas de amplio espectro, GES: *Guiana extended spectrum*, KPC: *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*, IMP: *active on imipenem*, NDM: *New Delhi metallo-beta-lactamase*, OXA: *oxacilina*, VIM: *Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase*, GIM: *German imipenemase*, SHV: *sulfhydryl variable*, TEM: *Tem oneira*, PER: *Pseudomonas extended resistant*, PSE: *Pseudomonas-specific enzymes*.

penicilina + inhibidor, cefalosporinas y carbapenémicos. Sin embargo, la sobre-expresión de AmpC puede conducir a una resistencia a prácticamente todos los β -lactámicos (principalmente resistencia a ceftazidima), exceptuando los carbapenémicos, donde se requiere la cooperación de mecanismos de resistencia adicionales como bombas de expulsión, disminución en la permeabilidad de membrana por mutaciones en las porinas (OprD) y/o co-producción de carbapenemasas^{16,17}.

El camino hacia la desrepresión de AmpC involucra tres estructuras genéticas: (i) una permeasa de membrana interna conocida como AmpG; (ii) una amidasa citosólica, AmpD; y (iii) un factor de transcripción, AmpR, que pertenece a la familia de proteínas reguladoras LysR. Estas tres proteínas son necesarias para la inducción del gen *ampC*, tanto en *Enterobacteriales* como en *P. aeruginosa*, aunque no hay evidencia directa que vincule a AmpG con la ruta de inducción de AmpC de *P. aeruginosa*, y estos eventos mutacionales pueden conducir a la aparición de resistencia durante la terapia antimicrobiana¹⁸. Se ha informado la aparición de resistencia debido a la desrepresión de AmpC en hasta 56% de los pacientes tratados con penicilinas antipseudomonas, combinaciones de penicilina + inhibidor, cefalosporinas de espectro extendido y aztreonam, y es más frecuente durante el tratamiento de infecciones fuera del tracto urinario y en pacientes con fibrosis quística y neutropenia¹⁹.

Grupo 1e: AmpC de espectro extendido

La sobreexpresión de AmpC en sí misma, no afecta la susceptibilidad de *P. aeruginosa* a los carbapenémicos; sin embargo, las variantes mutacionales recientemente descritas de AmpC (cefalosporinasa AmpC de espectro extendido) se han caracterizado por influir directamente en la susceptibilidad a estos antimicrobianos. Aunque estas enzimas pueden exhibir una mayor actividad hidrolítica sobre cefalosporinas e imipenem, la sobreproducción de AmpC de espectro extendido parece ser un requisito para la resistencia a carbapenémicos¹¹. Estas enzimas son inhibidas por ceftazidima/avibactam, aunque estudios han demostrado que ceftolozano/tazobactam tiene mayor estabilidad frente a estas enzimas²⁰.

Grupo 2b

Son β -lactamasas tipo serina de clase molecular A. Las β -lactamasas hidrolizan fácilmente las penicilinas y cefalosporinas de primera generación¹⁷. Incluyen las enzimas comunes codificadas por plásmidos TEM-1, TEM-2 y SHV-1. La primera β -lactamasa de tipo TEM, producida por una cepa de *Escherichia coli*, se informó en 1965 y más tarde fue llamada TEM-1; una variante de esta enzima, TEM-2, originalmente observada en *P. aeruginosa*, difiere de TEM-1 sólo en un aminoácido, pero no en su perfil de sustrato^{17,22}.

Grupo 2be

Este grupo incluye una amplia variedad de β -lactamasas tipo serina de espectro extendido (BLEE) de clase molecular A. Las BLEE son un grupo de β -lactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas de primera generación, oximino-cefalosporinas (ceftazidima, ceftriaxona y cefotaxima), cefepime y aztreonam; y son inhibidas eficientemente por inhibidores de β -lactamasas, como ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam y ceftazidima/avibactam^{17,20}. La primera BLEE derivada de TEM notificada en *P. aeruginosa* fue TEM-42 de un aislado clínico en Francia; desde ese primer informe, sólo se han descrito otras cuatro BLEEs derivadas de TEM (TEM-4, TEM-21, TEM-24 y TEM-116)^{16,18}. Además, se han identificado cuatro BLEEs derivadas de SHV (SHV-2, SHV-2a, SHV-5 y SHV-12) en aislados clínicos de *P. aeruginosa*¹³. Mientras que, de la familia CTX-M, hasta la fecha, se han identificado en *P. aeruginosa*, las siguientes variantes CTX-M1, CTX-M2, CTX-M3, CTX-M14, CTX-M15, CTX-M43^{11-13,23,24}. Las BLEE de tipo PER comparten sólo alrededor de 25-27% de homología con las BLEE conocidas de tipo TEM y SHV; PER-1 se detectó por primera vez en *P. aeruginosa* en Turquía, se encontró que 11% de *P. aeruginosa* produce PER-1. Se ha detectado PER-2, que comparte un 86% de homología con PER-1, en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Vibrio cholerae*¹⁴. La presencia del gen *PER-1* también se ha descrito en Italia, donde se detectó en 9 de 26 aislados del torrente sanguíneo de *P. aeruginosa* resistente a ceftazidima²⁵.

La detección de BLEEs en *P. aeruginosa* representa un riesgo diagnóstico ante la ausencia de pruebas fenotípicas estandarizadas. Adicionalmente, el impacto clínico de la producción de estas enzimas en *P. aeruginosa* es incierto, por lo que informarlas en el antibiograma mediante pruebas fenotípicas no estandarizadas internacionalmente o editar a resistente el resultado de cefalosporinas o penicilinas no se encuentra recomendado y puede generar un consumo innecesario y exagerado de carbapenémicos en *P. aeruginosa*, lo cual va en contravía de los programas de uso apropiado de antimicrobianos (PROA)²⁶.

Grupo 2c

Son penicilinasas tipo serina, de clase molecular A. Este tipo de enzimas identificadas en *P. aeruginosa* incluyen PSE-1, PSE-2, PSE-3, PSE-4, PSE-5, CARB-3 y CARB-4¹⁷; aunque estas enzimas son inhibidas por el clavulanato, hidrolizan la ticarcilina con tal eficacia que pueden proporcionar a *P. aeruginosa* resistencia a ticarcilina/clavulanato. En contraste, las cepas de *P. aeruginosa* que producen enzimas tipo PSE son más susceptibles a piperacilina/tazobactam¹⁵.

Grupo 2d: *Penicilinas tipo OXA*

Son enzimas moleculares de clase D con serina en el sitio activo, débilmente inhibidas por el clavulanato, sulbactam y tazobactam, y se inhiben *in vitro* con cloruro de sodio. La denominación OXA, responde a la descripción inicial de mayor actividad hidrolítica hacia cloxacilina y oxacilina. Debido a sus perfiles hidrolíticos limitados y a la falta de inhibición por tazobactam y clavulanato, estas β -lactamasas de tipo OXA proporcionan principalmente resistencia de *P. aeruginosa* a las penicilinas antipseudomonas (ticarcilina y piperacilina) y combinaciones de penicilina + inhibidores de β -lactamasas¹¹. Las penicilinas tipo OXA hasta ahora descritas son OXA-5, OXA-6, OXA-10, OXA-13, OXA-20, OXA-46, OXA-56, LCR-1¹⁷.

Grupo 2de: β -lactamasas de espectro extendido tipo OXA (BLEE-OXA)

Aunque los perfiles hidrolíticos pueden variar sustancialmente, las BLEE-OXA se caracterizan por su mayor hidrólisis hacia oximino-cefalosporinas y aztreonam¹⁷. Hay dos tipos principales de BLEE-OXA de clase D; algunos son derivados mutantes puntuales de β -lactamasas de clase D de espectro estrecho, con sustituciones de aminoácidos que amplían su espectro de hidrólisis hacia cefalosporinas de espectro extendido¹². Estas BLEE-OXA se derivan principalmente de las β -lactamasas de espectro estrecho OXA-10 (OXA-11, -13, -14, -16, -17, -19, -28, -35, -129, -142, -145, -147 y -183), OXA-2 (OXA-15, -32, -34, -36, -141 y -161) y OXA-1 (OXA-31)¹².

La primera serie publicada de BLEE tipo OXA fue OXA-11; esta enzima es una variante de OXA-10 (anteriormente PSE-2) y se identificó por primera vez en 1991 en un aislado de *P. aeruginosa* en Turquía^{11,14}. En Francia, se encontró un nuevo derivado de OXA-10 (numerado OXA-28) en un aislado de *P. aeruginosa*. También se han descubierto en Francia una nueva BLEE (OXA-18) y un derivado de BLEE OXA-13 de amplio espectro (numerada OXA-19) en aislados de *P. aeruginosa*¹⁴.

Grupo 2df: *Carbapenemasas tipo OXA*

Son las β -lactamasas que pertenecen a la clase molecular D, llamadas también oxacilinasas que, adicionalmente a la hidrólisis de penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, tienen la capacidad de hidrolizar oxacilina y cloxacilina. Hasta la fecha sólo se han descrito unas pocas carbapenemasas de tipo OXA en *P. aeruginosa* (Tabla 2). La carbapenemasa OXA-40 fue detectada en dos aislados clínicos no relacionados clonalmente, resistentes a imipenem, en España¹⁵; demostró ser idéntica a la enzima encontrada en *Acinetobacter baumannii*. Aunque *bla*_{OXA-40} fue descrita originalmente como un gen cromosómico en *A. baumannii*, puede encontrarse también en plásmidos conjugativos. *Pseudomonas aeruginosa*

también codifica una enzima cromosómica OXA-50, cuyas variantes alélicas se han descrito y caracterizado como carbapenemasas⁽¹²⁾. Carbapenemasa OXA-48 y OXA-181 se aislaron en la India y en Reino Unido (de un paciente repatriado de la India), respectivamente, y una nueva carbapenemasa, OXA-198, es una β -lactamasas de clase D codificada por plásmidos, involucrada en la resistencia a carbapenémicos en un aislado de *P. aeruginosa* en Bélgica¹⁵.

Grupo 2f: *Carbapenemasas*

Son β -lactamasas tipo serina que pertenecen a la clase molecular A; son las que presentan mayor diversidad y distribución. Estas β -lactamasas se caracterizan por hidrolizar carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas y aztreonam. Su actividad *in vitro* es pobremente inhibida por ácido clavulánico y tazobactam, y presenta una elevada inhibición por ácido fenilborónico y avibactam^{11,27}. Los genes que codifican para carbapenemasas de clase A de importancia clínica en *P. aeruginosa*, son transferidos en plásmidos²⁷.

La primera familia incluye las β -lactamasas tipo GES, de las que se han identificado dos variantes, GES-2 y GES-5, entre aislados clínicos de *P. aeruginosa* y brotes nosocomiales en diferentes regiones geográficas; estas enzimas demuestran una extensión de su actividad hidrolítica que incluye a imipenem¹¹.

La segunda familia incluye las carbapenemasas de *K. pneumoniae* (KPC); en la actualidad se han descrito 43 variantes alélicas del gen *bla*_{KPC}, las que difieren entre sí por 1-3 aminoácidos²⁷. Estas variantes de KPC han sido clasificadas desde *bla*_{KPC-2} a *bla*_{KPC-46}. La primera *P. aeruginosa* productora de KPC se informó entre los aislados clínicos en Colombia, y se caracterizó como KPC-2. Posteriormente, se identificó KPC-2 entre aislados de *P. aeruginosa* de Puerto Rico, Trinidad y Tobago, China y los Estados Unidos de América (E.U.A.), y KPC-5 fue caracterizada en un aislado clínico de *P. aeruginosa* de Puerto Rico⁽¹¹⁾. Las cepas de *P. aeruginosa* que producen KPC pueden mostrar resistencia a todos los antimicrobianos β -lactámicos, excepto a ceftazidima/avibactam²⁰.

Grupo 3: *Metallo- β -lactamasas (MBLs)*

Son enzimas de clase molecular B, se caracterizan por su requerimiento de uno o dos iones de zinc en su sitio activo; están mediados por plásmidos y son altamente transferibles¹³. Las MBLs se subdividen, a su vez, en tres subclases (B1, B2, B3), basado en identificación de secuencias de aminoácidos. Las enzimas de la subclase B1 y B3 tienen dos iones de zinc en su sitio activo y pueden hidrolizar penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, en comparación con las enzimas de subclase B2 que tienen un ión de zinc. Estas enzimas hidrolizan

solamente carbapenémicos y no hidrolizan penicilinas ni cefalosporinas¹⁶; tampoco hidrolizan eficientemente al aztreonam. Sin embargo, la co-producción de cefalosporinas y/o carbapenemasas de clase A o D pueden conferir resistencia al aztreonam y su acción es inhibida por el agente quelante EDTA (ácido etilen-diamino-tetra-acético)^{11,27,28}.

La primera MBL transferible, IMP-1, se identificó en 1988 en un aislado clínico de *P. aeruginosa* de Japón¹³. Desde este primer informe, se han descrito docenas de MBLs transferibles a nivel mundial, y pertenecen a cinco familias distintas: IMP, VIM, GIM, SPM y NDM-1. La mayoría de ellas han sido reportadas en Europa y Asia, encontrándose también algunas subclases de VIM en E.U.A.; en Latinoamérica se identificó y reportó por primera vez el gen *bla*_{VIM-2} que codifica para la MBL VIM-2, en una cepa de *Pseudomonas fluorescens* en Chile y 3 cepas de *P. aeruginosa* en Venezuela, resistentes a imipenem^{11,13,16,28,29}.

Detección de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa*

La detección de la resistencia a carbapenémicos mediada por carbapenemasas tiene importancia clínica particular, porque permite optimizar la aplicación de medidas de control de infecciones (barreras de contacto) para contener su diseminación y ajustar el tratamiento teniendo en cuenta las nuevas alternativas terapéuticas. Algunas de las pruebas más empleadas se resumen en la Tabla 3.

Resistencia enzimática a los aminoglucósidos

Enzimas modificadoras de aminoglucósidos (EMA)

Los aminoglucósidos (gentamicina, amikacina, tobramicina, etc.), son un grupo de antimicrobianos comúnmente utilizados en el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa*, contienen un anillo aminociclitol unido a los aminoazúcares por enlaces glucosídicos y su actividad depende de la unión a un sitio altamente conservado del ARNr 16S. La resistencia a los aminoglucósidos se debe a múltiples factores, como la reducción de la permeabilidad de membrana, bombas de expulsión, mutaciones ribosomales y mecanismos enzimáticos (EMA) que modifican la estructura molecular de los grupos amino y glucósido (Tabla 4)^{9,12,13}. Las EMA inactivan los aminoglucósidos mediante la unión de grupos acetilo, fosfato o adenilo a los sustituyentes amino e hidroxilo en la molécula del antimicrobiano (Tabla 4). Estas modificaciones reducen significativamente la afinidad de los aminoglucósidos por la diana (subunidad ribosomal 30S) y bloquean su actividad²¹.

Un gen común de la acetiltransferasa de resistencia a gentamicina de *P. aeruginosa*, *aac* (3) está asociado con un transposón localizado cromosómicamente (Tn801) que también porta un gen de β-lactamasa (*bla*_{TEM-21}). De manera similar, el gen *aph* (3') que confiere resistencia a kanamicina, neomicina y estreptomycin, y el gen *ant* (3'')-I que confiere resistencia a tobramicina, netilmicina y amikacina, se transportaron en elementos genéticos móviles (EGM) que se asocian con la resistencia a las β-lactamasas. Se ha informado que la prevalencia de

Tabla 3. Pruebas para la detección de carbapenemasas en *P. aeruginosa*

Prueba	Desempeño	Tiempo de respuesta	Alcance	Limitaciones
Test de inactivación mCIM y test de inactivación mCIM + EDTA	Sensibilidad: 98% Especificidad: 95%	16-20 h	Detección de carbapenemasas de clases A, B y D	Algunos falsos positivos en cepas que hiper producen AmpC. No detecta co-producciones de enzimas (Clases A+B o B+D)
Sinergia con EDTA	Sensibilidad: 92% Especificidad: 94%	16-20 h	Diferenciación de metalo/carbapenemasas (clase B)	Falsos positivos por permeabilización de la membrana. No detecta co-producciones de enzimas (Clases A+B o B+D).
Carba NP/Blue Carba	Sensibilidad 97,8% Especificidad: 97,8%	2 h	Detección de carbapenemasas de clases A , B y D	No diferencia las clases de carbapenemasas. Algunos falsos positivos y negativos en cepas mucoides.
Inmunoensayo de flujo lateral	Sensibilidad: 100% Especificidad: 95-100%	15 min	Detección de carbapenemasas de clases A (KPC), Clase B (NDM/VIM/IMP) y D (OXA-48)	Limitado a las variantes contenidas en el inserto del producto. Mutaciones o nuevas variantes pueden no ser detectadas
RPC Multiplex	Sensibilidad: 100% Especificidad: 98,1%	1 hora	Detección de carbapenemasas de clases A (KPC), Clase B (NDM/VIM/IMP) y D (OXA-48)	Limitado a las variantes contenidas en el inserto del producto. Mutaciones o nuevas variantes pueden no ser detectadas

Fuente: Villegas MV, y cols. 2016²⁶. Wozniak A, y cols. 2019³⁰. Abreviaciones: mCIM: *modified carbapenem inactivation method*, EDTA: ácido etilen-diamino-tetra-acético, KPC: *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*, NDM: Nueva Delhi metalo carbapenemase, IMP: *imipenemase*, OXA: *oxacilinase*, RPC: reacción de polimerasa en cadena.

Tabla 4. Clasificación de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos en *P. aeruginosa*

EMA	Tipo (variantes)	Modo de acción
Aminoglucósido fosfotransferasa (APH)	APH (2'') - I APH (3') - I APH (3') - II APH (3') - IV	Transfieren un grupo fosforilo al 3'-hidroxilo de los aminoglucósidos como kanamicina, neomicina y estreptomina, inactivando así estos antimicrobianos
Aminoglucósido acetiltransferasa (AAC)	AAC (6') - I AAC (6') - II AAC (3) - I (Ia, Ib, Ic) AAC (3) - II AAC (3) - III AAC (3) - IV	Transfieren un grupo acetilo al grupo amino en la posición 3 'y 6' de los aminoglucósidos, que es responsable de la inactivación de gentamicina, tobramicina, netilmicina, kanamicina y amikacina
Aminoglucósido nucleotidiltransferasas (ANT)	ANT (2'')-I ANT (3'')-I ANT (4'') - II (IIa, IIb)	Transfieren un grupo adenilo al grupo amino o hidroxilo de los aminoglucósidos, confiriendo resistencia a gentamicina, amikacina y tobramicina

Fuente: Pang, Z. y cols. 2019⁹. Subedi D, y cols. 2018¹³.

EMA en *P. aeruginosa* resistente a los aminoglucósidos es de hasta 75%¹³.

Metilasas del ARNr16S

Este mecanismo de resistencia a aminoglucósidos se basa en la modificación del sitio diana. Los genes codificantes se mueven en elementos genéticos móviles (transposones, plásmidos conjugativos) lo que favorece su propagación horizontal. Los aislados que producen metilasas del ARNr16S son multi-resistentes por definición. Estos plásmidos conjugativos transportan genes codificantes de enzimas BLEEs y MBLs. Se han identificado diez metilasas de ARNr16S entre los aislados gramnegativos: ArmA, RmtA, RmtB, RmtC, RmtD, RmtD2, RmtE, RmtF, RmtG y NpmA¹².

La primera metilasa ARNr16S recuperada en *P. aeruginosa* fue identificada en el año 2003, en un aislado clínico de Japón que producía RmtA. En el 2009 se identificaron en Corea del Sur, otras enzimas RmtA en aislados de *P. aeruginosa*. El gen *rmtA* se encuentra en elementos genéticos móviles, como el transposón Tn5041. En el 2007, la metilasa RmtD se informó por primera vez en Brasil, a partir de un aislado clínico de *P. aeruginosa* panresistente que co-producía la MBL SPM-1. El gen *rmtD* comparte 40% de identidad de aminoácidos con el gen *rmtA*, y las estructuras genéticas que rodean a ambos genes correspondientes compartían características similares. Posteriormente, otro estudio subrayó que la co-producción de MBL SPM-1 y la metilasa de ARNr16S-RmtD era común entre los aislados de *P. aeruginosa* resistentes a imipenem recuperados en hospitales de São Paulo, Brasil¹².

Nuevas alternativas terapéuticas para el manejo de *Pseudomonas aeruginosa* MDR/XDR

Las nuevas opciones de tratamiento de *P. aeruginosa* MDR se basan en combinaciones de antimicrobianos antiguos y nuevos inhibidores, o en el desarrollo de nuevas moléculas sintéticas. Se busca con estos antimicrobianos, optimizar los desenlaces clínicos, minimizando los efectos secundarios y la actividad sub-óptima de las polimixinas (Tabla 5)³.

Cefalosporinas sideróforas (también conocidas como cefemas de catecol)

Cefiderocol

Es una nueva cefalosporina siderófora con un residuo de catecol en la posición 3 de la cadena lateral, que permite la unión del ion férrico y el complejo resultante (iones cefiderocol y de hierro) penetra activamente las bacterias utilizando los sistemas transportadores de hierro y el influjo acelerado aumenta la actividad de cefiderocol contra bacterias gramnegativas, incluyendo cepas MDR productoras de β -lactamasas³¹. Se evaluó la actividad antibacteriana de cefiderocol contra bacterias gramnegativas no fermentadoras de glucosa como *A. baumannii* complex, *P. aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia*. Los resultados obtenidos indican que cefiderocol tiene actividad *in vitro* más potente contra bacterias no fermentadoras, con valores de CIM significativamente

Tabla 5. Nuevos agentes antimicrobianos con actividad antipseudomonas

Agentes	Fase de desarrollo	Indicaciones de uso
Cefalosporinas sideróforas		
cefiderocol	Aprobado por FDA/EMA para uso clínico	ITUc
Cefalosporinas + inhibidor de β-lactamasa		
ceftazidima/avibactam	Aprobado por FDA/EMA para uso clínico	ITUc, NN, NAV e IIAC + metronidazol
ceftolozano/tazobactam	Aprobado por FDA/EMA para uso clínico	ITUc, NN, NAV y IIAC + metronidazol
cefepima/tazobactam	Fase 3	ITU c
cefepima/zidebactam	Fase 1	ND
Carbapenem + inhibidor de β-lactamasa		
imipenem/relebactam	Aprobado por FDA para uso clínico	ITUc y IIAC -
Monobactam + inhibidor de β-lactamasa		
aztreonam/avibactam	Fase 3	ITUc, NN, NAV y IIAC + metronidazol
Neoglucósidos		
plazomicina	Aprobado por la FDA para el uso clínico	ITUc

Fuente: Pang Z, y cols. 2019⁹. Bassetti M, y cols. 2018²¹. Abreviaciones: FDA: *Food and Drug Administration*. EMA: *European Medicine Agency*; ITUc: Infecciones complicadas del tracto urinario incluyendo pielonefritis; IIAC: Infecciones intra-abdominales complicadas; NN: neumonía nosocomial; NAV: neumonía asociada al ventilador; ND: no definidas.

más bajos en comparación con ceftazidima, meropenem, levofloxacina, cefepima y piperacilina/tazobactam. Cefiderocol mostró valores bajos de CIM para la mayoría de las cepas probadas, incluidas las cepas resistentes a los β-lactámicos, como las cepas que poseen MBL (GIM-1, IMP, SPM-1 y VIM)³². Para el tamizaje del antibiograma, existen puntos de corte CLSI de investigación y debe usarse Mueller Hinton con baja concentración de hierro¹⁰.

Nuevos aminoglucósidos

Plazomicina

Es un aminoglucósido semisintético de nueva generación, derivado del producto natural sisomicina. Los aminoglucósidos ejercen actividad contra bacterias gramnegativas al inhibir la síntesis de proteínas en la subunidad 30S del ribosoma; sin embargo, la resistencia que pueden presentar algunas bacterias a este tipo de antimicrobianos es debido principalmente a la producción de las EMA. Plazomicina es capaz de evadir un amplio espectro de EMA, pero es lábil a las metiltransferasas ribosomales ARNr 16S que usualmente son transferidas en plásmidos conjugativos, donde también se movilizan las carbapenemasas como NDM. Plazomicina demuestra una potente actividad *in vitro* contra patógenos bacterianos gramnegativos y grampositivos³³.

Antimicrobianos β-lactámicos existentes combinados con nuevos inhibidores de β-lactamasas

Ceftazidima/avibactam (CZA)

Resulta de la combinación de una cefalosporina antipseudomonas: ceftazidima, con el inhibidor de β-lactamasas avibactam. Fue aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA, sigla en inglés) en 2015 y por la Agencia Europea de Medicinas (EMA, sigla en inglés), para el tratamiento de adultos con infecciones complicadas del tracto urinario (ITUc), incluyendo pielonefritis aguda, e infecciones intra abdominales complicadas (IIAC) en combinación con metronidazol, y fue aprobada recientemente por la FDA para el tratamiento de neumonía adquirida en el hospital (NAH) y neumonía asociada a ventilador (NAV) a la misma dosis (2,5 gm c/8 h en 2 h de infusión)^{34,35}. En Europa, además tiene la indicación para el manejo de infecciones por bacterias gramnegativas aerobias en pacientes adultos con limitadas opciones terapéuticas³⁴.

Ceftazidima es una cefalosporina de tercera generación de amplio espectro que, al igual que otros β-lactámicos, ejerce su efecto al unirse a las proteínas de unión a penicilina (PBP), inhibiendo así el entrecruzamiento del peptidoglicano durante la síntesis de la pared celular, conduciendo a la lisis y muerte

celular^{24,26}. A diferencia de la mayoría de los inhibidores de β -lactamasas, avibactam no es β -lactámico, posee un anillo de diazo-biciclo-octano y actúa a través de la acilación covalente de las enzimas β -lactamasas, en un proceso que es lentamente reversible, con desacilación (sin hidrólisis) y liberación del avibactam intacto. La adición de avibactam restaura la actividad de ceftazidima contra *P. aeruginosa* que producen BLEEs y carbapenemasas de clase A (KPC) y de clase D (OXA-48). Avibactam también aumenta la potencia de ceftazidima contra *P. aeruginosa*, a través de la inhibición de AmpC^{3,36}.

La resistencia a la CZA mediada por enzimas se ha observado en aislados que producen MBL de clase B (VIM, NDM, IMP), sobre los cuales avibactam no tiene actividad inhibitoria o en cepas con mutaciones en el gen *AmpC*, mientras que la disminución de la permeabilidad y la expresión de bombas de expulsión, contribuyen a la resistencia a ceftazidima, independientemente de la presencia de avibactam^{35,37}. Se evaluó recientemente la actividad en paralelo de ceftolozano/tazobactam (C/T) y ceftazidima/avibactam en 195 cepas de *P. aeruginosa* resistentes a meropenem procedentes de la vía respiratoria, en las que, las actividades inhibitorias de CZA y C/T fueron de 81 y 91%, respectivamente³⁷.

Imipenem/relebactam

Relebactam es un inhibidor de β -lactamasas diazo-biciclo-octano no β -lactámico, está relacionado estructuralmente con avibactam, diferenciándose de éste por presentar un anillo adicional de piperidina. La piperidina posee carga positiva, permitiéndole resistir a las bombas de expulsión de las bacterias. Relebactam es efectivo contra β -lactamasas de clase A (ej. KPC) y clase C (ej. AmpC), pero es inactivo frente a β -lactamasas de clase B (ej. VIM, NDM e IMP) y β -lactamasas clase D (ej. OXA-48). La adición de relebactam mejora la actividad de imipenem e inhibe las enzimas carbapenemasas por acetilación, junto con la inhibición de la síntesis de la pared celular y es altamente activo frente a β -lactamasa PER-2, PDC-3 y BLEE de *P. aeruginosa*^{34,38}. Estudios ha demostrado que relebactam tiene una actividad más potente contra PER-2, una β -lactamasa producida por *P. aeruginosa*, en comparación con avibactam ($K_{i,app}$ 5,8 \pm 0,6 y 29 \pm 3 μ M, respectivamente). Sin embargo, al comparar imipenem/relebactam con ceftazidima/avibactam, ceftazidima es hidrolizada por PER a diferencia de imipenem. En un estudio similar, se determinó que tanto relebactam como avibactam tienen actividad contra PDC-3, una BLEE producida por *P. aeruginosa* ($K_{i,app}$ 3,4 \pm 0,4 y 2,5 \pm 0,3 μ M, respectivamente)³⁸.

En estudios realizados, se demostró que las CIM de imipenem para cepas de *P. aeruginosa* susceptibles fueron principalmente de 1 a 2 μ g/ml y se redujeron a

0,25 a 0,5 μ g/ml con la adición de relebactam. Se observó una potenciación dependiente de la concentración de imipenem por relebactam para todos los grupos de *P. aeruginosa* resistentes a imipenem, excepto aquellos con MBL. Para aislados que carecen de OprD, y sin otros mecanismos de resistencia, las CIM de imipenem fueron 16 a 64 μ g/ml y con la adición de relebactam se redujeron a \leq 2 μ g/ml en 4/8 casos, y en 7/8 casos a 8 μ g/ml³⁹.

Lapuebla y cols., encontraron en 490 aislados de *P. aeruginosa*, que la adición de relebactam a imipenem redujo la CIM de 2-16 a 0,5-2 μ g/ml. Así mismo, encontraron que en 144 aislados no susceptibles a imipenem, con la adición de relebactam se obtuvieron valores de las CIM entre 1-2 μ g/ml⁴⁰.

Nuevos antimicrobianos β -lactámicos combinados con inhibidores de β -lactamasa existentes

Ceftolozano/tazobactam (C/T)

Es la combinación de una nueva cefalosporina anti-pseudomonas de espectro extendido, con un conocido inhibidor de β -lactamasas. Fue aprobado por la FDA en diciembre de 2014 para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas más metronidazol, e infecciones complicadas del tracto urinario, incluyendo pielonefritis aguda, en pacientes adultos^{3,34}. En 2019 recibió la aprobación FDA para neumonía nosocomial incluyendo NAVM. Al igual que con todos los β -lactámicos, la actividad antimicrobiana se debe a la inhibición de las PBP involucradas en los pasos finales de la biosíntesis de peptidoglicanos³⁵.

La molécula de ceftolozano es una oximino-cefalosporina que difiere de ceftazidima principalmente por la presencia de una cadena lateral más voluminosa en la posición 3 del anillo de dihidrotiazina. Esta modificación conlleva una afinidad más alta y un perfil de inhibición más amplio hacia las PBP esenciales de *P. aeruginosa* (PBP1b, PBP1c, PBP2 y PBP3) en comparación con ceftazidima, mientras que la afinidad por PBP4 sigue siendo inferior a la de imipenem y, por lo tanto, no inducirá una sobre-expresión de AmpC. Debido a esta modificación, ceftolozano también es más estable frente a la β -lactamasa AmpC cromosómica de *P. aeruginosa* y es un sustrato, en general pobre, de las bombas de expulsión MexAB-OprM encontradas en esta especie³⁶.

Gracias a estas características y al hecho de que, a diferencia de los carbapenémicos, la entrada a través de la membrana externa de *P. aeruginosa* no se ve afectada por la funcionalidad de la porina OprD, ceftolozano exhibe una actividad antipseudomonas superior. El tazobactam le confiere protección frente a algunas β -lactamasas tipo serina^{19,32}.

La actividad *in vitro* de ceftolozano es ocho veces más alta que la de ceftazidima y se ha demostrado que C/T tiene actividad *in vitro* superior a imipenem y piperacilina/tazobactam. Un aspecto importante que se ha determinado en estudios *in vitro*, es que contra *P. aeruginosa* resistente a ceftazidima, C/T mantiene su actividad, resaltando la utilidad clínica de C/T contra las infecciones por este microorganismo. Además, los estudios han demostrado que las CIM de C/T frente a aislados de *P. aeruginosa* que producen β -lactamasas AmpC se encontraban entre 2 y 4 $\mu\text{g/ml}$, lo que sugiere estabilidad de C/T frente a estas enzimas³⁴. Ceftolozano ha demostrado una potente actividad *in vitro* contra *P. aeruginosa* (CIM_{50/90}, 0,5/4 $\mu\text{g/ml}$) y se ha demostrado que C/T tiene mayor actividad en comparación con piperacilina/tazobactam, ceftazidima o meropenem. Así mismo, se ha demostrado que C/T permanece activo contra la mayoría de las cepas de MRD / XDR (CIM_{50/90}, 4/> 64 $\mu\text{g/ml}$), ya que no se ve afectado por algunos de los principales mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa* (hiperproducción de AmpC, bombas de eflujo y/o pérdida de OprD).

Los estudios *in vitro* han demostrado que el desarrollo de resistencia a ceftolozano / tazobactam es mucho más lento que el de resistencia a otros agentes antipseudomonas (ej. ceftazidima).

En Latinoamérica el principal mecanismo de resistencia a ceftolozano es la presencia de carbapenemasas de clase A (principalmente KPC) y de clase B (principalmente VIM)⁽³⁴⁾.

Antibiograma en *Pseudomonas aeruginosa*

Para el uso apropiado de antimicrobianos antipseudomonas se requiere conocer la epidemiología local, los mecanismos de resistencia circulantes, las indicaciones, alcances y limitaciones de todas las moléculas disponibles, incluyendo las nuevas alternativas y conocer el impacto sobre la presión selectiva de los antimicrobianos antipseudomonas para elegir la terapia con menor daño colateral. Adicionalmente, realizar las pruebas confirmatorias para mecanismos de resistencia enzimática a β -lactámicos con relevancia clínica (carbapenemasas)²⁶. En la Tabla 6, se presentan cinco recomendaciones para una interpretación adecuada del antibiograma en el contexto de resistencia enzimática y no enzimática a los β -lactámicos en el marco de un PROA.

Conclusiones

El continuo aumento de pacientes inmunocomprometidos y la ventaja evolutiva de las bacterias para mutar rápidamente y adaptarse a las amenazas antimicrobianas/biocidas en su entorno, hacen que el tratamiento de las enfermedades infecciosas sea un desafío serio. Este es el caso de *P. aeruginosa*, patógeno oportunista con gran capacidad para desarrollar multi-resistencia. Si bien la diseminación de mecanismos por elementos genéticos móviles es un constante desafío para el control de infecciones, quizás el reto más difícil que

Tabla 6. Reglas de experto en la interpretación de antibiograma para *P. aeruginosa*

Regla	Comentarios
1. Suprimir antimicrobianos con resistencia intrínseca	Suprimir antimicrobianos con resistencia natural en <i>P. aeruginosa</i> permitirá que se escojan únicamente las moléculas activas sobre este microorganismo. La lista completa de antimicrobianos con resistencia natural se encuentra en la Tabla 1.
2. Tamizar todos los antimicrobianos antipseudomonas	Los espectros hidrolíticos de los diferentes tipos de enzima pueden variar de acuerdo con su nivel de expresión y la adquisición de elementos genéticos móviles. Adicionalmente, es importante tener alternativas disponibles en casos de multi-resistencia. Los antimicrobianos antipseudomonas más usados son: ceftazidima, cefepima, aztreonam, piperacilina/tazobactam, imipenem, meropenem, doripenem, ceftolozano/tazobactam, ceftazidima/avibactam, ciprofloxacina, levofloxacina, gentamicina, amikacina, colistina, fosfomicina
3. Incluir la CIM en el informe del antibiograma	La CIM es fundamental para escoger la alternativa con mayor potencia y apoya la detección de mecanismos de resistencia con relevancia clínica. La CIM debe incluirse al menos para β -lactámicos, quinolonas y polimixinas
4. Detectar mecanismos de resistencia con relevancia clínica	La detección y diferenciación de carbapenemasas permite escoger las alternativas terapéuticas más adecuadas como ceftazidima/avibactam, aztreonam, combinaciones de antimicrobianos, etc , o permite el uso de otras moléculas como ceftolozano/tazobactam para resistencia no mediada por carbapenemasas
5. Editar los informes e incluir pies de página	Las ediciones permiten una interpretación correcta del antibiograma. Por ejemplo, en caso de resistencia a ciprofloxacina, cambiar a resistente la interpretación de otras quinolonas como levofloxacina. Incluir notas informando la presencia de las carbapenemasas y editar los informes cuando se tengan resultados moleculares o fenotípicos rápidos. Por ejemplo: informar resistencia a piperacilina/tazobactam, cefepima o aztreonam cuando se detecten carbapenemasas de clase A (KPC)

Adaptado de: Villegas MV, y cols. 2016²⁶.

enfrentamos con este patógeno es su rápida capacidad de desarrollar resistencia a varias clases de antimicrobianos simultáneamente, inclusive durante el tratamiento de cepas inicialmente sensibles e incluyendo a las nuevas moléculas.

El laboratorio de microbiología juega un papel importante en la búsqueda de pruebas más sensibles, específicas y oportunas, para detectar estos mecanismos de resistencia, por lo que la estrecha colaboración entre el laboratorio y el médico clínico es esencial para el cuidado del paciente, y es la base del PROA.

Al ser la resistencia enzimática uno de los principales mecanismos de resistencia expresados por *P. aeruginosa*, se necesita el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que sean capaces de bloquear o inhibir estas enzimas. De los nuevos antimicrobianos que han sido aprobados y otros que están en desarrollo, se puede concluir que ninguno es activo frente a cepas productoras de MBL, que son las enzimas más frecuentemente encontradas en esta especie. Por lo tanto, combinaciones de inhibidores como avibactam + aztreonam pueden ser una alternativa para el manejo de estas infecciones.

Referencias bibliográficas

- Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Front Microbiol*. 2014; 4 (Jan): 1-8. doi: 10.3389/fmicb.2013.00422.
- Oliver A. Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: Role of high-risk clones in multidrug resistance. *Enf Infec Microbiol Clin*. 2017; 35 (3): 137-8. doi: 10.1016/j.eimc.2016.11.006.
- Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. *Rev Esp Quimioter*. 2017; 30 (Suppl 1): 8-12. PMID: 28882007.
- Villa L M, Cortés J A, Leal A L, Meneses A, Meléndez M P. *Pseudomonas aeruginosa* resistente a antimicrobianos en hospitales colombianos. *Rev Chil Infectol*. 2013; 30 (6): 605-10. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182013000600005>.
- Yadav R, Bulitta J B, Wang J, Nation R L, Landersdorfer C B. Evaluation of pharmacokinetic/pharmacodynamic model-based optimized combination regimens against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a murine thigh infection model by using humanized dosing schemes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61 (12): 1-11. doi: 10.1128/AAC.01268-17.
- Bolaños C, Iannacone J. Patrones fenotípicos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* de muestras clínicas a nivel de Sudamérica. *ReserachGate*. 2016; 1 (2): 1-29. doi: 10.24039/cv20164164.
- Estepa V, Rojo-Bezares B, Azcona-Gutiérrez J M, Olarte I, Torres C, Sáenz Y. Caracterización de mecanismos de resistencia a carbapenémicos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital español. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2017; 35 (3): 141-7. doi: 10.1016/j.eimc.2015.12.014.
- De Matos E C O, Andriolo R B, Rodrigues Y C, Lima P D L de, Carneiro I C do R S, Lima K V B. Mortality in patients with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a meta-analysis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2018; 51 (4): 415-20. doi: 10.1590/0037-8682-0506-2017.
- Pang Z, Raudonis R, Glick B R, Lin T J, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*. 2019; 37 (1): 177-92. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100., editor. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020; 1-332. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- Wolter D, Lister P. Mechanisms of β -lactam resistance among *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Pharm Des*. 2012; 19 (2): 209-22. PMID: 22894618.
- Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *ELSEVIER*. 2015; 45 (6): 568-85. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.03.001.
- Subedi D, Vijay A K, Willcox M. Overview of mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an ocular perspective. *Clin Exp Optom*. 2018; 101 (2): 162-71. doi: 10.1111/cxo.12621.
- Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi S M D, Kamal M A. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: types, epidemiology and treatment. *Saudi J Biol Sci*. 2015; 22 (1): 90-101. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.08.002.
- Bonnin R, Bogaerts P, Girlich D, Huang T D, Laurent D, Glupczynski Y, et al. Molecular characterization of OXA-198 carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Am Soc Microbiol*. 2018; 62 (6): 1-7. doi: 10.1128/AAC.02496-17.
- Wu W, Feng Y, Tang G, Qiao F, McNally A, Zong Z. NDM metallo- β -lactamases and their bacterial producers in health care settings. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32 (2): 1-45. doi: 10.1128/CMR.00115-18.
- Laudy A E, Róg P, Smolinska-Król K, Ćmiel M, Söeczynska A, Patzer J, et al. Prevalence of ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. *PLoS One*. 2017; 12 (6): 1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180121>.
- Lister P, Wolter D, Hanson N. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Am Soc Microbiol*. 2009; 22 (4): 582-610. doi: 10.1128/CMR.00040-09.
- Horcajada J P, Montero M, Oliver A, Sorlí L, Luque S, Gómez-Zorrilla S, et al. Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32 (4): 1-52. doi: 10.1128/CMR.00031-19.
- Humphries R, Hindler J, Wong-Beringer A, Miller S. Activity of ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam against beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61 (12): e01858-17. doi: 10.1128/AAC.01858-17.
- Ullah W, Qasim M, Rahman H, Bari F, Khan S, Dworeck T, et al. Molecular identification of TEM-116 beta-lactamase gene in isolates of pathogenic *Pseudomonas aeruginosa*: A first report from Pakistan. *Trop J Pharm Res*. 2017; 16 (1): 149-54. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v16i1.19>.
- Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E, Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs Context*. 2018; 7: 212527. doi: 10.7573/dic.212527.
- Ullah W, Qasim M, Rahman H, Khan S, Rehman Z ur, Ali N, et al. CTX-M-15 and OXA-10 beta lactamases in multi drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: First report from Pakistan. *Microb Pathog*. 2017; 105: 240-4. doi: 10.1016/j.micpath.2017.02.039.
- Sales A, Fathi R, Mobaiyen H, Bonab F, Kondlaji K, Sadeghnezhadi M. Molecular study

- of efflux genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical samples. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2017; 6 (7): 4549-56. doi: 10.20546/ijcmas.2017.607.475.
- 25.- Croughs P D, Klaassen C H W, van Rosmalen J, Maghdid D M, Boers S A, Hays J P, et al. Unexpected mechanisms of resistance in Dutch *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected during 14 years of surveillance. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2018; 52 (3): 407-10. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2018.05.009.
- 26.- Villegas M V, Zurita J, Esparza G. Guía para la implementación de un programa de optimización de antimicrobianos (PROA) a nivel hospitalario. *Asociación Panamericana de Infectología* 2016; 1-91. <https://www.apiinfectologia.org/guia-para-la-implementacion-del-proa-a-nivel-hospitalario/>
- 27.- Vera-Leiva A, Barria-Loaiza C, Carrasco-Anabalón S, Lima C, Aguayo-Reyes A, Domínguez M, et al. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Rev Chil infectología* 2012; 34 (5): 476-84. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182017000500476>.
- 28.- Pérez I A, García C P, Poggi M H, Braun J S, Castillo V C, Román JC, et al. Presence of metallo β -lactamases in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Med Chile* 2008; 136 (4): 423-32. PMID: 18769784.
- 29.- Labarca J A, Salles M J C, Seas C, Guzmán-Blanco M. Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America. *Crit Rev Microbiol.* 2016; 42 (2): 276-92. doi: 10.3109/1040841X.2014.940494.
- 30.- Wozniak A, Paillavil B, Legarraga P, Zumarán C, Prado S, García P. Evaluation of a rapid immunochromatographic test for detection of KPC in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* species. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019; 95 (2): 131-3. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.05.009. Epub 2019 May 24.
- 31.- Wright H, Bonomo R A, Paterson D L. New agents for the treatment of infections with Gram-negative bacteria: restoring the miracle or false dawn? *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23 (10): 704-12. doi: 10.1016/j.cmi.2017.09.001.
- 32.- Ito A, Kohira N, Bouchillon S K, West J, Rittenhouse S, Sader H S, et al. In vitro antimicrobial activity of S-649266, a catechol-substituted siderophore cephalosporin, when tested against non-fermenting Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71 (3): 670-7. doi: 10.1093/jac/dkv402.
- 33.- Doi Y. Treatment options for carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis.* 2019; 69 (Suppl 7): S565-75. doi: 10.1093/cid/ciz830.
- 34.- Pragasa A, Veeraraghavan B, Nalini E, Anandan S, Kaye K. An update on antimicrobial resistance and the role of newer antimicrobial agents for *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Med Microbiol.* 2018; 36 (3): 303. doi: 10.4103/ijmm.IJMM_18_334.
- 35.- Shirley M. Ceftazidime-Avibactam: a review in the treatment of serious gram-negative bacterial infections. *Indian J Med Microbiol.* 2018; 78 (6): 675-92. doi: 10.1007/s40265-018-0902-x.
- 36.- Humphries R M, Hindler J A, Wong-Beringer A, Miller S A. Activity of ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam against beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61 (12): 1-4. doi: 10.1128/AAC.01858-17.
- 37.- Grupper M, Sutherland C, Nicolau D P. Multicenter Evaluation of ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam inhibitory activity against meropenem-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* from blood, respiratory tract, and wounds. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61 (10): e00875-17. doi: 10.1128/AAC.00875-17.
- 38.- Zhanel G G, Lawrence C K, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Zhanel M, et al. Imipenem-relebactam and meropenem-vaborbactam: two novel carbapenem- β -lactamase inhibitor combinations. *Drugs.* 2018; 78 (1): 65-98. doi: 10.1007/s40265-017-0851-9.
- 39.- Livermore D M, Warner M, Mushtaq S. Activity of MK-7655 combined with imipenem against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2013; 68 (10): 2286-990. doi: 10.1093/jac/dkt178.
- 40.- Lapuebla A, Abdallah M, Olafisoye O, Cortes C, Urban C, Landman D, et al. Activity of imipenem with relebactam against gram-negative pathogens from New York City. *Am Soc Microbiol.* 2015; 59 (8): 5029-31. doi: 10.1128/AAC.00830-15.